

**Vorrichtung und Verfahren zur Untersuchung chemischer und/oder biologischer Proben, sowie Objektivaufsatz**

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Untersuchung chemischer und/ oder biologischer Proben mit Hilfe optischer Einrichtungen sowie einen Objektivaufsatz für die dabei verwendete optische Einrichtung. Bei der optischen Einrichtung kann es sich beispielsweise um ein Mikroskop, insbesondere um ein inverses konfokales Mikroskop, handeln.

Derartige Untersuchungsvorrichtungen weisen ein Objektiv zur Beobachtung der Probe auf. Wird mit Hilfe des Objektivs beispielsweise eine in einem Probenträger vorhandene Probe von unten durch einen für die entsprechende Beobachtungsstrahlung durchlässigen Probenträgerboden betrachtet, so wirkt sich die gegebene Konstellation der Brechungsindizes insbesondere bei hoch numerischen Objektiven ungünstig auf den Verlauf des Strahlengangs aus. Unterschiedliche Brechungsindizes treten bei den Übergängen zwischen der Austrittslinse des Objektivs und der Umgebungsluft sowie zwischen dem Boden des Probenträgers und dem zwischen Objektiv und Probenträgerboden angeordneten Medium auf.

Insbesondere bei konfokalen Mikroskopen, die im Hochdurchsatzscreening eingesetzt werden, muss ein sehr kleiner Fokus bestehen. Dies ist erforderlich, da im Hochdurchsatzscreening Proben mit geringen Volumina im  $\mu\text{l}$ -Bereich

- 2 -

untersucht werden. Da die von dem Objektiv erfasste Menge der von der Probe abgegebenen Strahlung (Einsammeleffizienz) großen Einfluss auf die Messzeit hat, muss die Apertur des Objektivs möglichst hoch sein. Dies ist insbesondere beim Hochdurchsatzscreening wichtig, da die Messzeit einer der entscheidenden Parameter darstellt.

Üblicherweise wird eine Immersionsflüssigkeit mit einem Brechungsindex  $>1$  auf die Austrittslinse des Objektivs aufgebracht. Eine derartige Untersuchungsvorrichtung, bei der die Zufuhr der Immersionsflüssigkeit automatisch erfolgt, ist aus WO 02/093232 bekannt. Das Objektiv der Vorrichtung ist dabei in einem derart geringen Abstand zu einem Probenträger angeordnet, dass die auf das Objektiv aufgebrachte Immersionsflüssigkeit auf Grund von Kapillarkräften in einem zwischen dem Objektiv und einer Außenfläche einer Probenträgerwand gebildeten Spalt gehalten wird. Die Zufuhr der Immersionsflüssigkeit kann alternativ auch dadurch erfolgen, dass das Objektiv vertikal und/oder horizontal verfahren wird, um ohne an den Probenträger zu stoßen beispielsweise mit einer Pipette ein Immersionsmedium, wie z.B. destilliertes Wasser, auf das Objektiv aufzubringen. Das Objektiv der beschriebenen Vorrichtung ist von einer Auffangeinrichtung zur Aufnahme überschüssigen Immersionsmediums umgeben. Dadurch soll das Objektiv vor Verschmutzung durch am Glasboden haftende Partikel geschützt werden.

Nachteilig bei einer derartigen Untersuchungsvorrichtung ist, dass die Auffangeinrichtung platzbedingt nur sehr klein ausgestaltet werden kann. Dies führt zu Schwierigkeiten bei der Abfuhr des in die Auffangeinrichtung eingelauften Immersionsmediums. Das überschüssige Immersionsmedium bildet in der Auffangeinrichtung in der Regel einzelne Tropfen, die sich nur sehr schwer aus der Auffangeinrichtung über eine einzelne Absaugöffnung absaugen lassen. Mit der Zeit werden die Tropfen immer größer, so dass die Gefahr besteht, dass ein Tropfen so groß wird, dass Immersionsmedium über den Rand der Auffangeinrichtung hinausfließt. Insbesondere, wenn der Probenträger hohen Beschleunigungskräften ausgesetzt ist, wie dies insbesondere zur Mess-

- 3 -

zeitreduktion im Hochdurchsatzscreening der Fall ist, besteht die Gefahr, dass einzelne Tropfen aus Immersionsmedium am Deckglas haften bleiben und später herunterfallen.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zu Grunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Untersuchung chemischer und/ oder biologischer Proben zu schaffen, sowie einen Objektivaufsatz, welcher ein sicheres, automatisiertes Zuführen und Abführen von Immersionsflüssigkeit erlaubt.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch eine Vorrichtung mit den Merkmalen des Anspruchs 1, ein Verfahren mit den Merkmalen des Anspruchs 9 sowie einen Objektivaufsatz mit den Merkmalen des Anspruchs 12.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung zur Untersuchung chemischer und/ oder biologischer Proben weist zunächst einen Probenträger zur Aufnahme der zu untersuchenden Proben auf. Dem Probenträger gegenüberliegend angeordnet ist ein Objektiv, das insbesondere Teil eines inversen Mikroskops ist. Zur Beobachtung der Proben weist der Probenträger eine für die entsprechende Wellenlänge transparente Probenträgerwand auf. Einer Außenfläche der Probenträgerwand gegenüberliegend ist eine Austrittslinse des Objektivs angeordnet, so dass die Probe durch die Probenträgerwand hindurch untersucht werden kann. Zwischen der Austrittslinse des Objektivs und der Außenfläche der Probenträgerwand ist ein Spalt ausgebildet entsprechend der Gegenstandsbrennweite des Objektivs. Der Spalt weist eine derartige Breite auf, dass in ihm ein Film aus einem Immersionsmedium angeordnet werden kann, so dass der Film sowohl mit der Außenfläche der Probenträgerwand als auch mit der Austrittslinse oder dem Austrittsfenster des Objektivs in Kontakt ist. Hierzu weist der Spalt vorzugsweise einen Abstand von weniger als 1000 µm, insbesondere weniger als 500 µm, und besonders bevorzugt weniger als 200 µm auf.

Die Austrittslinse oder das Austrittsfenster ist von einer Schutzeinrichtung umgeben, die das Objektiv vor Verschmutzung durch das Immersionsmedium

- 4 -

schützt. Die Schutzeinrichtung ist zur Abfuhr des Immersionsmediums mit einer Absaugeeinrichtung verbunden. Erfindungsgemäß weist die Schutzeinrichtung einen mit der Absaugeeinrichtung verbundenen Kapillarkanal zum Abführen des Immersionsmediums auf, d.h., dass über den Kapillarkanal das Immersionsmedium zumindest teilweise mit Hilfe von Kapillarkräften abgeführt wird.

Auf Grund der in dem Kapillarkanal herrschenden Kapillarkräfte wird ein Teil des Immersionsmediums, das beispielsweise als Tropfen vorliegt, in den Kapillarkanal hineingesaugt. Dadurch wird ein Tropfen aus dem Immersionsmedium sozusagen punktiert bzw. aufgestochen, so dass der Immersionsmediumstropfen in den Kapillarkanal hinein ausläuft. Das Risiko, dass ein Tropfen immer größer wird und an der Schutzeinrichtung vorbei das Objektiv verschmutzt, ist dadurch unterbunden. Somit ist ein sicheres Zuführen und Abführen von Immersionsmedium gewährleistet.

Die Schutzeinrichtung kann beispielsweise mehrere Kapillarkanäle aufweisen mit Eingangsöffnungen, die ringförmig um die Austrittslinse herum angeordnet sind. Die Eingangsöffnungen weisen eine Querschnittsfläche von vorzugsweise  $<1\text{ mm}^2$ , insbesondere  $<0,8\text{ mm}^2$  auf. Zur vereinfachten Herstellbarkeit ist der Kapillarkanal alternativ im Wesentlichen als Ringspalt um die Austrittslinse herum ausgestaltet, d.h. das die einzelnen Eingangsöffnungen sozusagen zu einem einzigen Spalt verbunden sind. Die Spaltbreite des Ringspalts beträgt insbesondere weniger als  $500\text{ }\mu\text{m}$ .

In bevorzugter Ausführungsform weist die Schutzeinrichtung mindestens zwei um das Objektiv herum angeordnete Kragenteile auf, die den Kapillarkanal ausbilden. Das bedeutet, dass die Kragenteile einen Teilbereich aufweisen, in dem sie derart beabstandet sind, dass dadurch der Kapillarkanal ausgebildet wird. Hierdurch kann die Herstellung des Kapillarkanals vereinfacht werden. Ferner kann die Montage der Schutzeinrichtung vereinfacht werden, da es möglich ist, die Kragenteile zwiebelartig bzw. schichtartig übereinander anzu-

- 5 -

ordnen. Wenn mehrere Kragenteile übereinander angeordnet werden, können besonders einfach mehrere Kapillarkanäle ausgebildet werden. Beispielsweise wird ein Kapillarkanal zur Abfuhr und ein Kapillarkanal zur Zufuhr von Immersionsmedium verwendet. Zufuhr und Abfuhr werden somit in separaten Kapillarringen realisiert.

Die Schutzeinrichtung weist vorzugsweise ein Überlaufbecken zur zusätzlichen Aufnahme des Immersionsmediums auf. Dadurch wird eine Verschmutzung des Objektivs durch Immersionsmedium vermieden, für den Fall, dass nach der Untersuchung eines Probenträgers das Objektiv von dem Probenträger weggefahren wird und somit plötzlich ein Großteil des in dem Spalt zwischen Austrittslinse und Probenträgerwand angeordneten Film aus Immersionsmedium abfließt. Insbesondere, damit auf eine zusätzliche Absaugeeinrichtung verzichtet werden kann, ist der Kapillarkanal mit dem Überlaufbecken verbunden. Dies erfolgt insbesondere dadurch, dass das Überlaufbecken einen Beckenboden aufweist mit einer Beckenbodenöffnung, die in bevorzugter Ausführungsform dem als Ringspalt ausgebildeten Kapillarkanal entspricht. Somit ist der Kapillarkanal über diese Beckenbodenöffnung mit dem Überlaufbecken verbunden. Das abzuführende Immersionsmedium fließt bei dieser Ausführungsform beispielsweise als einzelner Tropfen zunächst in das Überlaufbecken und wird von diesem mit Hilfe der in dem Kapillarkanal herrschenden Kapillarkräfte weiter abgeführt.

In besonders bevorzugter Ausführungsform weist die Vorrichtung zur Untersuchung chemischer und/ oder biologischer Proben ferner eine Zuführeinrichtung mit einem Zuführrohr auf, wobei eine Austrittsöffnung des Zuführrohrs derart nahe an der Austrittslinse des Objektivs angeordnet ist, dass eine Zufuhr von Immersionsmedium in den Spalt zumindest teilweise mit Hilfe von Kapillarkräften erfolgt. Das Zuführrohr ist dabei insbesondere wie in WO 02/093232 ausgebildet. Durch diese Maßnahme kann eine automatische Zuführung von Immersionsmedium in den Spalt bewerkstelligt werden. Im Zusammenspiel mit dem Kapillarkanal erfolgt gleichzeitig eine automatische Abfuhr des Immersi-

- 6 -

onsmediums, so dass ein kontinuierlicher Austausch des Immersionsmediums, beispielsweise zu Aufbereitungs- und/ oder Reinigungszwecken, sichergestellt werden kann. Ferner kann auf ein zeitaufwändiges Zuführen von Immersionsmedium durch Pipettieren verzichtet werden.

Alternativ zum Zuführrohr kann Immersionsmedium auch über den Kapillarkanal selbst zugeführt werden. Bei dieser Ausführungsform ist der Kapillarkanal nicht mit dem Überlaufbecken verbunden, sondern weist eine Kapillarkanaloöffnung auf, die derart nahe an der Austrittslinse angeordnet ist, dass eine Zufuhr von Immersionsmedium in den Spalt zumindest teilweise mit Hilfe von Kapillarkräften erfolgt. Ferner ist der Kapillarkanal mit einem Ventil, insbesondere einem 3/2-Wege-Ventil, verbunden, über das der Kapillarkanal sowohl mit der Absaugeeinrichtung als auch mit der Zuföhreinrichtung verbunden ist. Im Gegensatz zu der Ausführungsform mit dem Zuführrohr erfolgt der Austausch des Immersionsmediums nicht kontinuierlich, sondern diskontinuierlich. D.h. in einem Arbeitsschritt wird Immersionsmedium zugeführt und nach einem Schaltvorgang des Ventils in einem weiteren Arbeitsschritt Immersionsmedium wieder abgeführt oder anders herum.

Die Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Untersuchung chemischer und/ oder biologischer Proben, insbesondere mit Hilfe einer wie vorstehend beschriebenen Vorrichtung. Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren wird eine Austrittslinse eines Objektivs einem Probenträger gegenüberliegend angeordnet, um durch eine Probenträgerwand hindurch die Probe zu beobachten. Zwischen einer Außenfläche der Probenträgerwand und der Austrittslinse des Objektivs wird ein Spalt ausgebildet, derart, dass in dem Spalt z.B. mit Hilfe von Kapillarkräften ein Film aus einem Immersionsmedium angeordnet wird. Der Film ist dabei sowohl mit der Außenfläche der Probenträgerwand als auch mit der Austrittslinse des Objektivs in Kontakt. Erfindungsgemäß wird über einen in einer das Objektiv umgebenden Schutzeinrichtung ausgebildeten Kapillarkanal das Immersionsmedium automatisch, zumindest unterstützt durch Kapillarkräfte, abgeführt. Zum verbesserten Abführen des Immersionsmediums

- 7 -

wird insbesondere in dem Kapillarkanal mit Hilfe einer Absaugeinrichtung ein schwaches Vakuum erzeugt.

In bevorzugter Ausführungsform wird das Immersionsmedium automatisch zumindest teilweise mit Hilfe von Kapillarkräften zugeführt. Besonders bevorzugt erfolgt die Abfuhr des Immersionsmediums derart, dass das Volumen des Films aus Immersionsmedium im Wesentlichen konstant bleibt. Der abgeföhrte Volumenstrom wird dabei im Wesentlichen entsprechend zum zugeführten Volumenstrom eingestellt. Die Abfuhrmenge des Immersionsmediums kann konstruktiv, beispielsweise durch eine entsprechende Dimensionierung des Kapillarkanals, eingestellt werden. Ferner kann die Abfuhrmenge des Immersionsmediums durch Variation eines anliegenden Unterdrucks angepasst werden. Dies erfolgt insbesondere automatisch mit Hilfe einer entsprechenden Regeleinrichtung, die insbesondere die Größe des Films aus Immersionsmedium in dem Spalt zwischen Austrittslinse und Probenträgerwand detektiert.

Die Erfindung betrifft ferner einen Objektivaufsatz zum Schutz eines Objektivs, das insbesondere Teil der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist, vor Verschmutzung durch ein Immersionsmedium. Hierzu weist der Objektivaufsatz ein inneres Kragenteil zum Aufsetzen auf das Objektiv auf. Darüber hinaus weist der Objektivaufsatz ein äußeres Kragenteil auf, das um das innere Kragenteil herum angeordnet ist. Das innere Kragenteil und das äußere Kragenteil sind zumindest teilweise derart beabstandet, dass ein im Wesentlichen ringförmiger Kapillarkanal ausgebildet ist. Das äußere Kragenteil weist eine Austrittsöffnung auf, über die der Kapillarkanal mit einer Absaugeinrichtung verbunden ist. Zusätzlich weist das äußere Kragenteil ein Überlaufbecken zur Aufnahme des Immersionsmediums auf, wobei das Überlaufbecken einen Beckenboden mit einer Beckenbodenöffnung aufweist, über die der Kapillarkanal mit dem Überlaufbecken zur Abfuhr von Immersionsmedium verbunden ist. Mit Hilfe des erfindungsgemäßen Objektivaufsatzes lassen sich im Wesentlichen die gleichen Vorteile wie bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung erreichen. Dabei ist der Objektivaufsatz insbesondere entsprechend der Schutzeinrichtung der er-

- 8 -

findungsgemäßen Vorrichtung, ausgebildet. Ferner ist der Objektivaufsatz geeignet, mit seiner Hilfe das erfindungsgemäße Verfahren durchzuführen.

Nachfolgend wird die Erfindung anhand bevorzugter Ausführungsformen unter Bezugnahme auf die anliegenden Zeichnungen näher erläutert.

Es zeigen:

- Fig. 1 eine schematische Seitenansicht einer ersten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung,
- Fig. 2 eine perspektivische schematische Ansicht der in Fig. 1 dargestellten Vorrichtung,
- Fig. 3 eine schematische Schnittansicht eines erfindungsgemäßen Objektivaufsatzes,
- Fig. 4 eine schematische Schnittansicht einer weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung und
- Fig. 5 einen vergrößerten Teil der in Fig. 4 dargestellten Schutzeinrichtung.

Die in Fig. 1 dargestellte erfindungsgemäße Vorrichtung zur Untersuchung chemischer und/ oder biologischer Proben weist einen Probenträger 10 zur Aufnahme der Proben auf. Der Probenträger 10 weist eine Probenträgerwand 12 auf, durch die hindurch ein Objektiv 14 eines nicht dargestellten konfokalen Mikroskops von unten die Proben untersuchen kann. Zwischen einer Austrittslinse 16 und einer Außenfläche 18 der Probenträgerwand 12 ist ein Spalt 20 ausgebildet, in den mit Hilfe von Kapillarkräften ein Film 22 aus einem Immersionsmedium vorgesehen ist. Der Film 22 ist sowohl mit der Außenfläche 18 als auch mit der Austrittslinse 16 in Kontakt.

- 9 -

Die Austrittslinse 16 ist von einer Schutzeinrichtung 24 umgeben, die eine Verschmutzung des Objektivs 14 durch das Immersionsmedium verhindert. Im dargestellten Ausführungsbeispiel ist die Schutzeinrichtung 24 als Objektivauf- satz ausgebildet. Das bedeutet, dass der Objektivaufsatz 24 auf das Objektiv 14 aufgesetzt werden kann. Die Schutzeinrichtung 24 weist ein inneres Kragenteil 26 und ein äußeres Kragenteil 28 auf. In einem Teilbereich sind das innere und das äußere Kragenteil 26, 28 zueinander beabstandet, so dass sich ein Kapillarkanal 30 ausbildet. Der Kapillarkanal weist eine Kapillarkanalöff- nung 32 auf, über die das abzuführende Immersionsmedium in den Kapillar- kanal 30 hineingesaugt werden kann. Der Kapillarkanal 30 ist über eine Aus- trittsöffnung 34, die in dem äußeren Kragenteil 28 vorgesehen ist, mit einer Absaugeeinrichtung verbunden.

Das äußere Kragenteil 28 weist ferner ein Überlaufbecken 36 auf, das zusätz- lich Immersionsmedium aufnehmen kann. Das Überlaufbecken 36 weist einen Beckenboden 38 mit einer Beckenbodenöffnung 40 auf. Im dargestellten Aus- führungsbeispiel ist die Beckenbodenöffnung 40 mit der Kapillarkanalöffnung 32 identisch.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung zur Untersuchung chemischer und/ oder biologischer Proben weist ferner ein Zuführrohr 42 auf, über das mit Hilfe von Kapillarkräften Immersionsmedium in den Spalt 20 zwischen Austrittslinse 16 und Probenträgerwand 12 zugeführt wird. Zu diesem Zweck ist das Zuführrohr 42 mit einer Zuführeinrichtung verbunden, die beispielsweise über den Kapil- larkanal 30 zuvor abgeführt Immersionsmedium, das anschließend gereinigt und ggf. aufbereitet wurde, wieder zuführt.

In Fig. 2 weist das Überlaufbecken 36 zusätzlich eine Öffnung 44 auf, über die das Zuführrohr 42 befestigt werden kann. Das Zuführrohr 42 ist dadurch in seiner Position relativ zum Objektiv 14 fixiert. Eine ggf. auftretende Federbe-

- 10 -

wegung des Objektivs 44 führt somit nicht dazu, dass das Zuführrohr 42 aus seiner richtigen Lage heraus bewegt wird.

Fig. 3 zeigt einen erfindungsgemäßen Objektivaufsatz 48, der entsprechend der Schutzeinrichtung 24 aus Fig. 1 bzw. Fig. 2 ausgestaltet ist. Gleichwirkende Elemente des Objektivaufsets 48 sind mit gleichen Bezugszeichen versehen. In dem Überlaufbecken 36 ist ferner ein Tropfen 50 aus Immersionsmedium dargestellt, der oberhalb der Beckenbodenöffnung 40 bzw. der Kapillarkanalöffnung 32 angeordnet ist. Auf Grund der in dem Kapillarkanal 30 herrschenden Kapillarkräfte wird ein Teil 52 des Tropfens 50 in den Kapillarkanal 30 hineingesogen. Der Teil 52 wird auf Grund der Kapillarkräfte "aufgebrochen", so dass der Tropfen 50 in den Kapillarkanal 30 hinein ausläuft.

Das innere Kragenteil 26 des Objektivaufsets 48 weist eine Kontur 54 auf, die ein möglichst einfaches Aufsetzen auf ein Objektiv 14 ermöglicht. Ferner weist das innere Kragenteil 26 zwei Fortsätze 58, 60 auf, in die ein Dichtungsring eingesetzt werden kann. Dieser dient als Dichtung zwischen dem Objektiv 14 und dem inneren Kragenteil 26.

Das innere Kragenteil 26 weist ferner einen Absatz 62 auf, der als Anschlag das äußere Kragenteil 28 hält. Mit Hilfe des Absatzes 62 kann ein genau definierter Kapillarkanal 30 eingestellt werden, der durch Hinzufügen bzw. Entfernen nicht dargestellter ringförmiger Distanzelemente zusätzlich eingestellt werden kann.

Bei der in Fig. 4 dargestellten zweiten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Untersuchung chemischer und/ oder biologischer Proben sind gleichwirkende Elemente mit gleichen Bezugszeichen versehen. In dieser Ausführungsform weist das äußere Kragenteil 28 keine direkte Verbindung zwischen dem Überlaufbecken 36 und dem Kapillarkanal 30 auf. Die Kapillarkanalöffnung 32 befindet sich somit nicht in der Nähe des Überlaufbeckens 36, sondern in der Nähe des Films 22 aus Immersionsmedium. Ähnlich wie das

- 11 -

Zuführrohr 42 bei der ersten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist die Kapillarkanalöffnung 32 so nahe an der Austrittslinse 16 angeordnet, das eine Zufuhr von Immersionsmedium in den Spalt 20 zumindest teilweise mit Hilfe von Kapillarkräften erfolgt. Das bedeutet, dass der Kapillarkanal 30 sowohl zur Abfuhr als auch zur Zufuhr von Immersionsmedium verwendet wird. Zu diesem Zweck ist der Kapillarkanal 30 über die Austrittsöffnung 34 mit einem 3/2-Wege-Ventil verbunden, welches wiederum mit der Absaugeeinrichtung und mit der Zuführeinrichtung verbunden ist. Auf ein Zuführrohr 42 kann in dieser Ausführungsform verzichtet werden.

Entsprechend eines in Fig. 5 dargestellten Pfeils 64 wird der Kapillarkanal 30 also in zwei Richtungen durchströmt. Somit dient der Kapillarkanal 30 sowohl der Abfuhr von Immersionsmedium mit Hilfe von Kapillarkräften, als auch der Zufuhr von Immersionsmedium mit Hilfe von Kapillarkräften.

- 12 -

**Patentansprüche**

1. Vorrichtung zur Untersuchung chemischer und/oder biologischer Proben,  
mit  
einem Probenträger (10) zur Aufnahme der Proben,  
einem Objektiv (14) zur Beobachtung der Proben durch eine Probenträgerwand (12), wobei zwischen einer Außenfläche (18) der Probenträgerwand (12) und einer Austrittslinse (16) des Objektivs (14) ein Spalt (20) ausgebildet ist,  
einem in dem Spalt (20) derart vorsehbaren Film (22) aus einem Immersionsmedium, dass der Film sowohl mit der Außenfläche (18) der Probenträgerwand (12) als auch mit der Austrittslinse (16) des Objektivs (14) in Kontakt ist, und  
einer die Austrittslinse (16) umgebenden Schutzeinrichtung (24) zum Schutz des Objektivs (14) vor Verschmutzung durch das Immersionsmedium, wobei die Schutzeinrichtung (24) zur Abfuhr des Immersionsmediums mit einer Absaugeeinrichtung verbunden ist,  
dadurch gekennzeichnet, dass  
die Schutzeinrichtung (24) einen mit der Absaugeeinrichtung verbundenen Kapillarkanal (30) zum Abführen des Immersionsmediums aufweist.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Kapillarkanal (30) im Wesentlichen als Ringspalt um die Austrittslinse (16) herum ausgestaltet ist.

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Schutzeinrichtung (24) zwischen mindestens zwei um das Objektiv (14) herum angeordnete Kragenteile (26, 28) aufweist, die den Kapillarkanal (30) ausbilden.
4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 - 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Schutzeinrichtung (24) ein Überlaufbecken (36) zur zusätzlichen Aufnahme von Immersionsmedium aufweist.
5. Vorrichtung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Überlaufbecken (36) einen Beckenboden (38) mit einer Beckenbodenöffnung (40) aufweist, über die der Kapillarkanal (30) mit dem Überlaufbecken (36) verbunden ist.
6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 - 5, gekennzeichnet durch eine Zuführeinrichtung mit einem Zuführrohr (42), wobei eine Austrittsöffnung des Zuführrohrs (42) derart nah an der Austrittslinse (16) des Objektivs (14) angeordnet ist, dass eine Zufuhr von Immersionsmedium in den Spalt (20) zumindest teilweise mit Hilfe von Kapillarkräften erfolgt.
7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 - 6, dadurch gekennzeichnet, dass der Kapillarkanal (30) zur Zufuhr von Immersionsmedium mit einer Zuführeinrichtung verbunden ist und der Kapillarkanal (30) eine Kapillarkanalöffnung (32) aufweist, die derart nah an der Austrittslinse (16) angeordnet ist, dass eine Zufuhr von Immersionsmedium in den Spalt (20) zumindest teilweise mit Hilfe von Kapillarkräften erfolgt.
8. Vorrichtung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass der Kapillarkanal (30) mit einem Ventil, insbesondere einem 3/2-Wege-Ventil, verbunden ist, wobei das Ventil mit der Absaugeeinrichtung und mit der Zuführeinrichtung verbunden ist.

- 14 -

9. Verfahren zur Untersuchung chemischer und/oder biologischer Proben, bei dem eine Austrittslinse (16) eines Objektivs (14) einem Probenträger (10) gegenüberliegend zur Beobachtung der Probe durch eine Probenträgerwand (12) angeordnet wird, wobei zwischen einer Außenfläche (18) der Probenträgerwand (12) und der Austrittslinse (16) des Objektivs (14) ein Spalt (20) ausgebildet wird, derart, dass in dem Spalt (20) ein Film (22) aus einem Immersionsmedium angeordnet wird, der sowohl mit der Außenfläche (18) der Probenträgerwand (12) als auch mit der Austrittslinse (16) des Objektivs (14) in Kontakt ist,

dadurch gekennzeichnet, dass

über einen in einer das Objektiv (14) umgebenden Schutzeinrichtung (24) ausgebildeten Kapillarkanal (30) das Immersionsmedium automatisch zumindest unterstützt durch Kapillarkräfte abgeführt wird.

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Immersionsmedium automatisch zumindest teilweise mit Hilfe von Kapillarkräften zugeführt wird.
11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Abfuhr des Immersionsmediums relativ zur Zufuhr derart eingestellt wird, dass das Volumen des Films (22) aus Immersionsmedium im Wesentlichen konstant bleibt.
12. Objektivaufsatz zum Schutz eines Objektivs (14) vor Verschmutzung durch ein Immersionsmedium, mit  
einem inneren Kragenteil (26) zum Aufsetzen auf das Objektiv (14),

einem äußeren Kragenteil (28), das um das innere Kragenteil (26) herum angeordnet ist, wobei das innere Kragenteil (26) und das äußere Kragenteil (28) zumindest teilweise derart beabstandet sind, dass ein im Wesentlichen ringförmiger Kapillarkanal (30) ausgebildet ist und

einer in dem äußeren Kragenteil (28) angeordneten Austrittsöffnung (34), über die der Kapillarkanal (30) mit einer Absaugeinrichtung verbunden ist.

13. Objektivaufsatz nach Anspruch 12, gekennzeichnet durch ein in dem äußeren Kragenteil angeordnetes Überlaufbecken (36) zur Aufnahme des Immersionsmediums, wobei das Überlaufbecken (36) einen Beckenboden (38) mit einer Beckenbodenöffnung (40) aufweist, über die der Kapillarkanal (30) mit dem Überlaufbecken (36) zur Abfuhr von Immersionsmedium verbunden ist.

- 1/4 -

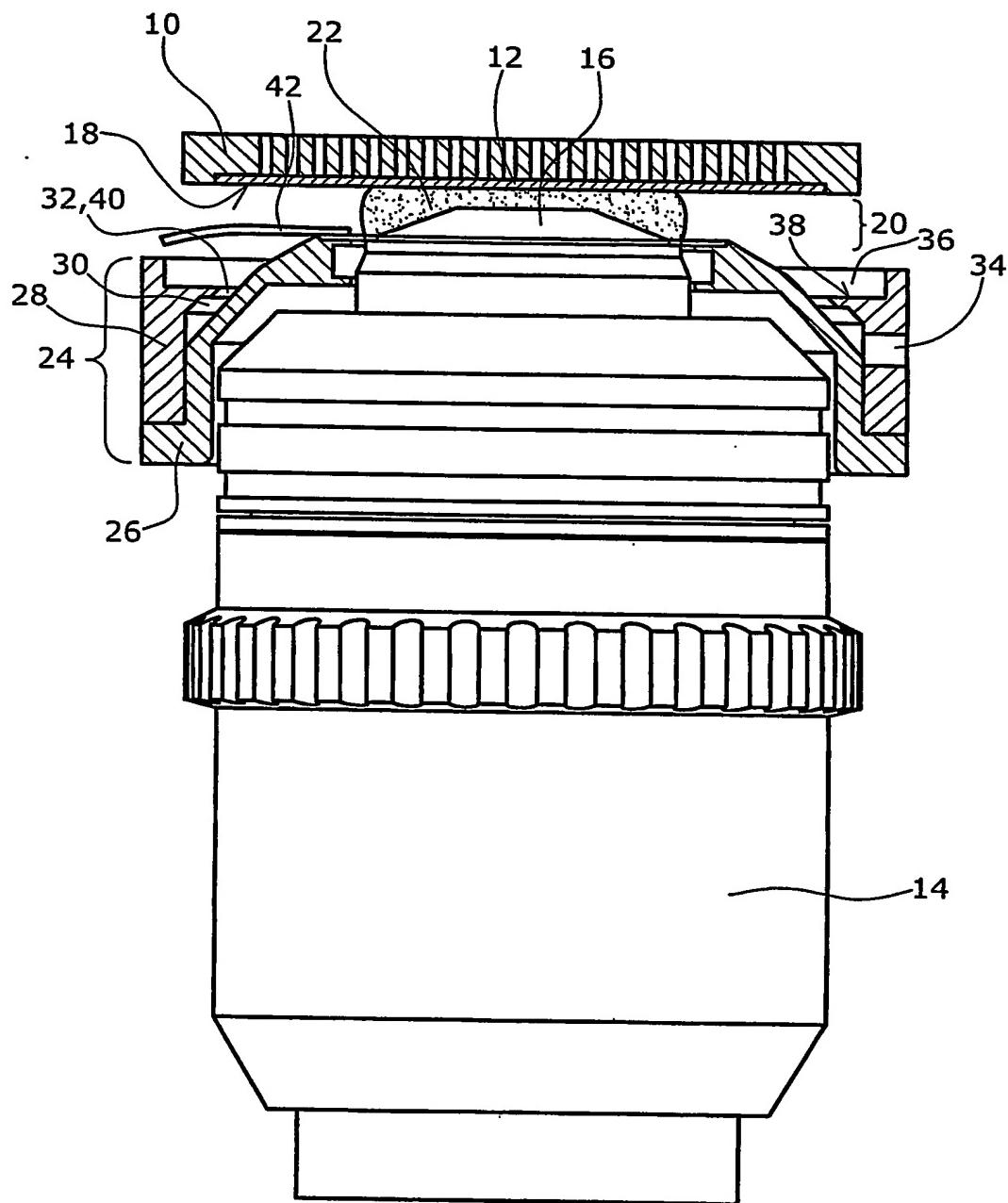


Fig 1

- 2/4 -

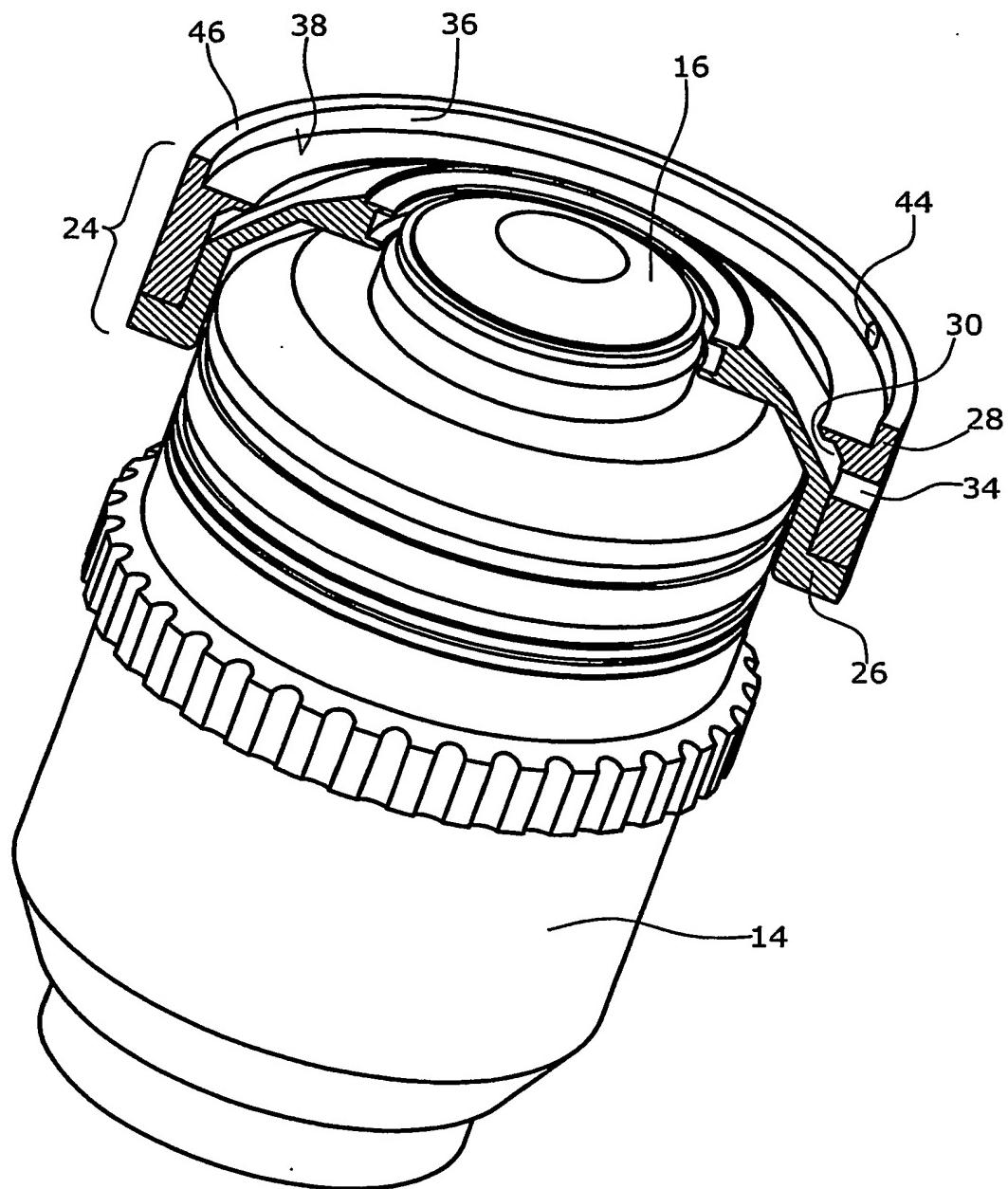


Fig.2

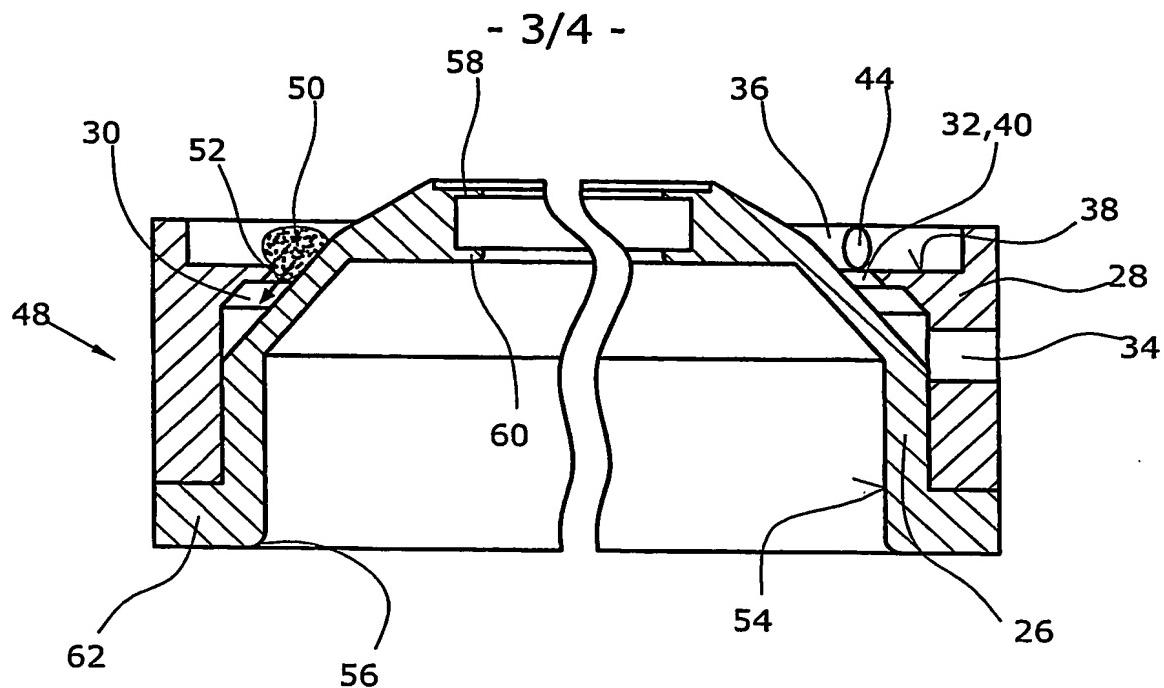


Fig.3

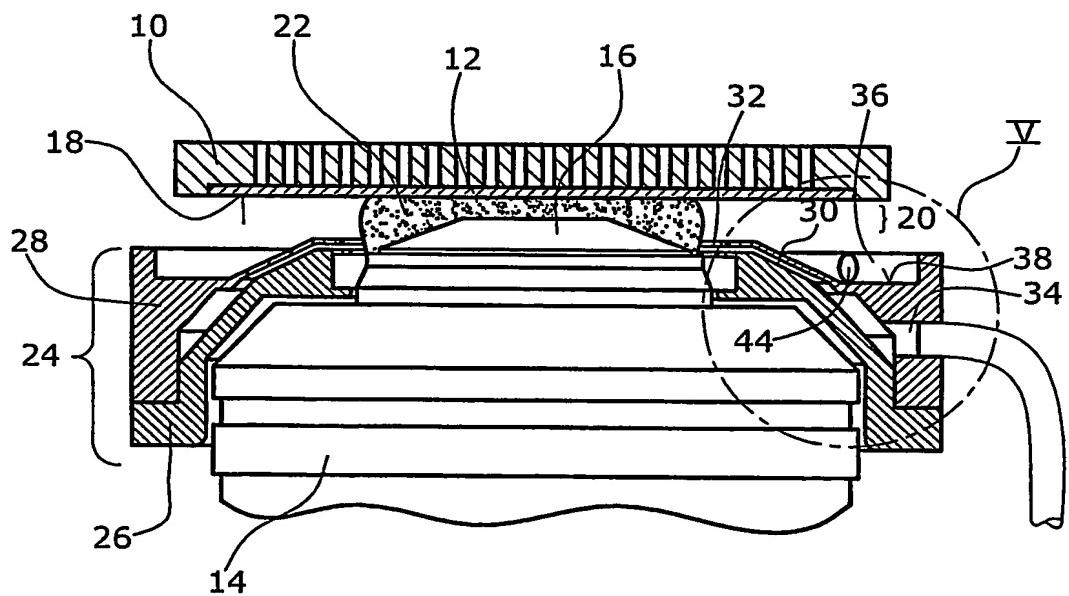


Fig.4

- 4/4 -

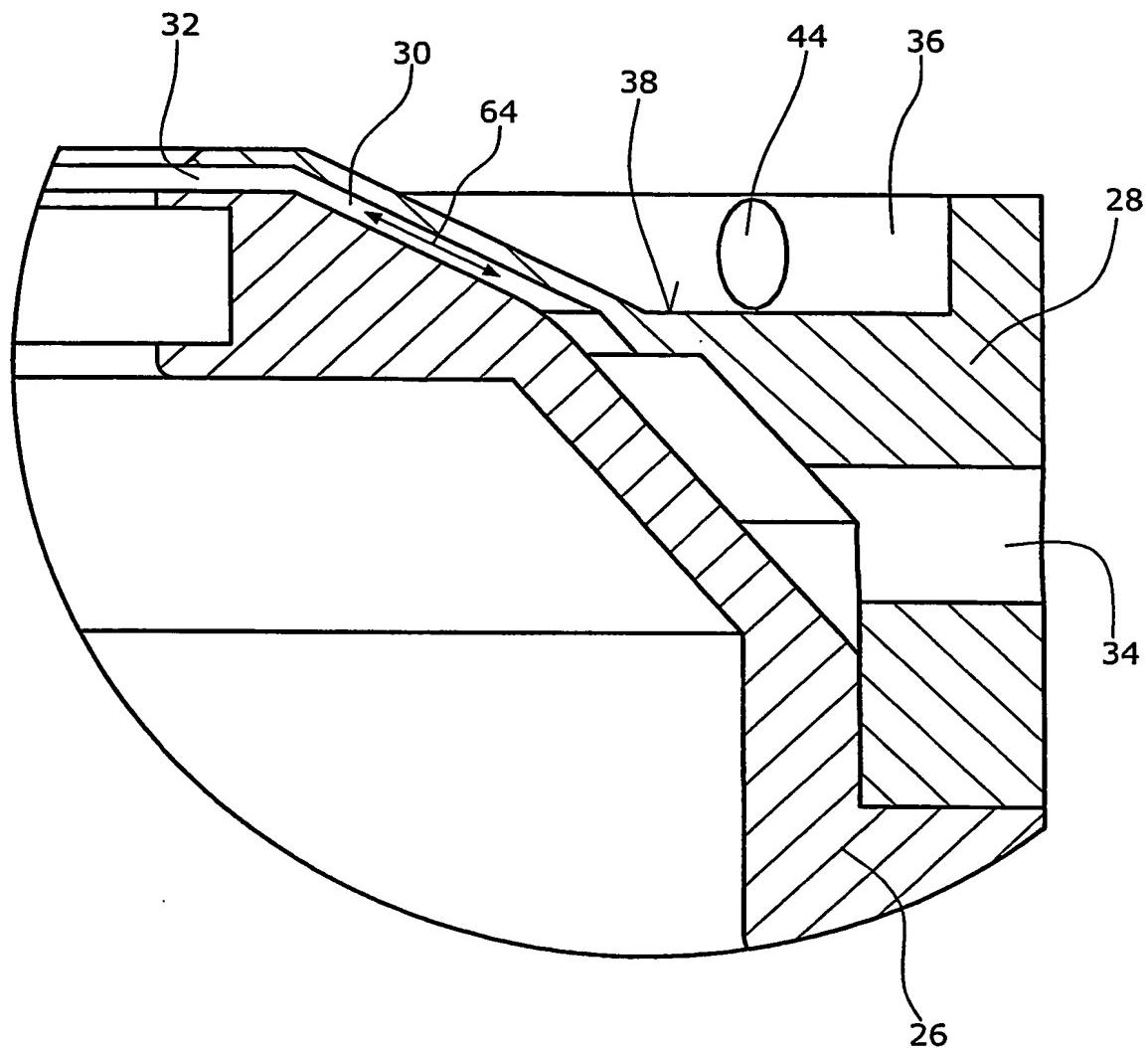


Fig.5

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 G02B21/33

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| X        | DE 101 23 027 A (EVOTEC AG)<br>21 November 2002 (2002-11-21)<br>cited in the application<br>column 2, line 12 - column 5, line 37<br>----- | 1-3, 6,<br>8-12       |
| A        | US 3 837 731 A (AMOS L ET AL)<br>24 September 1974 (1974-09-24)<br>column 2, line 8 - column 3, line 8<br>-----                            | 1-13                  |
| A        | US 3 202 049 A (BOND SELAH J)<br>24 August 1965 (1965-08-24)<br>column 1, line 69 - column 2, line 69<br>-----                             | 1-13                  |
| A        | WO 99/49504 A (FUKAMI YOSHIO ; MAGOME<br>NOBUTAKA (JP); NIPPON KOGAKU KK (JP))<br>30 September 1999 (1999-09-30)<br>abstract<br>-----      | 1-13                  |

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 September 2004

Date of mailing of the international search report

28/09/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Artelsmair, G

## Information on patent family members

International Application No  
PCT/EP2004/007971

| Patent document cited in search report |   | Publication date |                | Patent family member(s)                  |  | Publication date                       |
|--|---|------------------|----------------|--|--|--|
| DE 10123027                            | A | 21-11-2002       | DE<br>WO<br>EP | 10123027 A1<br>02093232 A2<br>1386189 A2 |  | 21-11-2002<br>21-11-2002<br>04-02-2004 |
| US 3837731                             | A | 24-09-1974       |                | NONE                                     |  |  |
| US 3202049                             | A | 24-08-1965       |                | NONE                                     |  |  |
| WO 9949504                             | A | 30-09-1999       | AU<br>WO       | 2747999 A<br>9949504 A1                  |  | 18-10-1999<br>30-09-1999               |

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 G02B21/33

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole )  
IPK 7 G02B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile                                   | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|--|--------------------|
| X          | DE 101 23 027 A (EVOTEC AG)<br>21. November 2002 (2002-11-21)<br>in der Anmeldung erwähnt<br>Spalte 2, Zeile 12 - Spalte 5, Zeile 37 | 1-3,6,<br>8-12     |
| A          | US 3 837 731 A (AMOS L ET AL)<br>24. September 1974 (1974-09-24)<br>Spalte 2, Zeile 8 - Spalte 3, Zeile 8                            | 1-13               |
| A          | US 3 202 049 A (BOND SELAH J)<br>24. August 1965 (1965-08-24)<br>Spalte 1, Zeile 69 - Spalte 2, Zeile 69                             | 1-13               |
| A          | WO 99/49504 A (FUKAMI YOSHIO ; MAGOME NOBUTAKA (JP); NIPPON KOGAKU KK (JP))<br>30. September 1999 (1999-09-30)<br>Zusammenfassung    | 1-13               |



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

- \* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Aussstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem Internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- \*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- \*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- \*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- \*&\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

17. September 2004

Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts

28/09/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Artelsmair, G

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument |   | Datum der Veröffentlichung |                | Mitglied(er) der Patentfamilie           |  | Datum der Veröffentlichung             |
|---|---|----------------------------|----------------|--|--|--|
| DE 10123027                                     | A | 21-11-2002                 | DE<br>WO<br>EP | 10123027 A1<br>02093232 A2<br>1386189 A2 |  | 21-11-2002<br>21-11-2002<br>04-02-2004 |
| US 3837731                                      | A | 24-09-1974                 |                | KEINE                                    |  |  |
| US 3202049                                      | A | 24-08-1965                 |                | KEINE                                    |  |  |
| WO 9949504                                      | A | 30-09-1999                 | AU<br>WO       | 2747999 A<br>9949504 A1                  |  | 18-10-1999<br>30-09-1999               |